rogen

AUST -FACULTY OF PHARMACY

Explosion

تحليل آلي

د.شهامة عدي

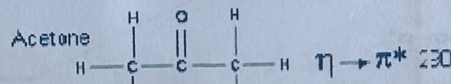
3+4
محاضرة

HYDROGEN TEAM

WRITTEN BY: ماريا الشيخ
DESIGHNED BY: ماريا الشيخ

Examples of Transitions and resulting λmax

Molecule	Transition	λ_{max} (nm)
Ethane	$\sigma \rightarrow \sigma^*$	135
Methanol	$\sigma \rightarrow \sigma^*$	150
	$n \rightarrow \sigma^*$	183
Ethylene	$\pi \rightarrow \pi^*$	175
Benzene	$\pi \rightarrow \pi^*$	254
Acetone	$n \rightarrow \pi^*$	290



* كلما ازداد عدد الروابط المضاعفة يزداد طول الموجة

<< المحاضرة الثالثة >>

العوامل المؤثرة على الامتصاص

1- حاملات اللون chromophore:

يطلق على المجموعة الوظيفية المسؤولة عن الامتصاص في الجزيء اسم كرموفور أي (هي التي تعطي اللون للمركب بسبب امتصاصها للأشعة المرئية أو ما فوق البنفسجية). وهي المجموعات الحاوية على الكترونات π و n (أو π كلاهما).

عصابات الامتصاص الالكترونية من أجل كروموفورات نموذجية:

* أي مادة لا تحتوي على كرومفور لا تمتص الضوء.

* امتصاص الضوء يجب أن يتم بالمجال UV/Vis

Chromophores: examples

Chromophore	Example	Excitation	λ_{max}, nm	ε	Solvent
C=C	Ethene	π —> π*	171	15,000	hexane
C≡C	1-Hexyne	π —> π*	180	10,000	hexane
C=O	Ethanal	n —> π* π —> π*	290 180	15 10,000	hexane hexane
N=O	Nitromethane	n —> π* π —> π*	275 200	17 5,000	ethanol ethanol

UV Spectroscopy: Chromophores

n→π* and π→π* Transitions

Most UV/vis spectra involve these transitions.

π→π* are generally **more intense** than n→π*

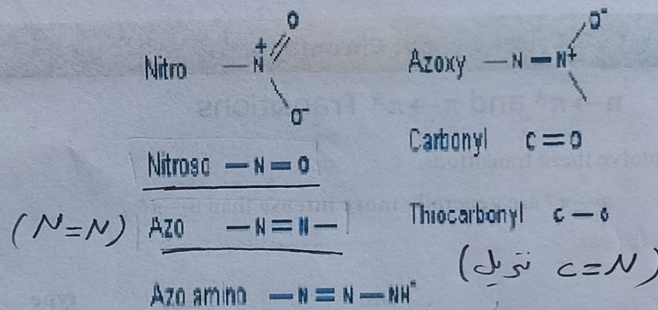
	λ_{max}	ε_{max}	type
$C_6H_{13}CH=CH_2$	177	13000	π→π*
$C_5H_{11}C\equiv C–CH_3$	178	10000	π→π*
$CH_3C(=O)CH_3$	186	1000	n→ *
$CH_3C(=O)OH$	204	41	n→π*
CH_3NO_2	280	22	n→π*
$CH_3N=NCH_3$	339	5	n→π*

* معلومة إضافية : الكوبالت + تيوسيانات ← لون زهري فاتح

UV Spectroscopy: Substituent Effects

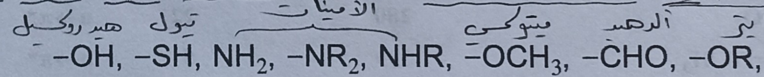
Conjugation – most efficient means of bringing about a bathochromic and hyperchromic shift of an unsaturated chromophore:

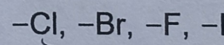
		λ_{max} nm	ε
$H_2C{=}CH_2$		175	15,000
(butadiene)		217	21,000
(hexatriene)		258	35,000
β-carotene		465	125,000
(acetone)	$n \rightarrow \pi^*$ $\pi \rightarrow \pi^*$	280 189	12 900
(methyl vinyl ketone)	$n \rightarrow \pi^*$ $\pi \rightarrow \pi^*$	280 213	27 7,100



2- الأوكسوكروم (معززات اللون) :auxochrome

يطلق اسم مجموعة أوكسوكرومية على مجموعة مشبعة تحتوي ذرة مغايرة ذات ثنائية الكترونية حرة (الكترونات n) مثل مجموعات الهيدروكسيل والأمين والهالوجينات والثيول والايتر والالدهيد.

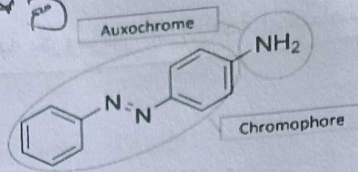




وهي لا تمتص الأشعة في المجال المرئي وما فوق البنفسجي إذا وجدت بمفردها في الجزيء لكنها تزيد من امتصاص حاملات اللون وتغير من طول موجة الامتصاص ← أي كلما غمق اللون زاد طول الموجة.

مهم * سؤال دورة: عدد الزمر الكروموفورية الموجودة في المركب:

الحل: $N=N$ ، $C=C$

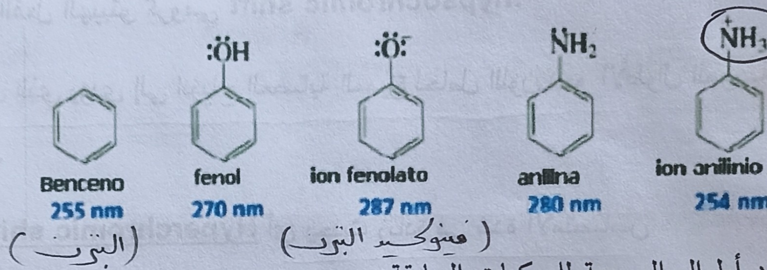


* عدد الزمر الأكسوكرومية:

الحل: NH_2.

* تأثير إضافة زمر أوكسوكرومية لحلقة البنزن:

إن وجود مثل تلك المجموعات يزيد من ثبات ال π^* ، وبالتالي يتسبب في خفض الطاقة اللازمة للانتقال من ال π إلى π^* ، ويحدث red shift أو bathochromic shift.



هي نفس NH_2 وصرت لها عملية (برتنة) أي إضافة بروتون

(البنزن) (فينوكسيد البنزن)

شرح سبب تزايد أطوال الموجية للمركبات السابقة:

المركب $C_6H_5O^-$ يملك أعلى طول موجة بسبب وجود الشحنة السالبة (الشرسبة) التي تكون حركيتها عالية وتزيد من الكثافة الالكترونية والتي تؤدي إلى زيادة الترافق والصيغ الطنينية وبالتالي تزداد ثباتية واستقرار المركب حيث تتقارب المدارات π و π^* من بعضها أي طاقة الانتقال تكون أقل وبالتالي طول الموجة أعلى بينما $C_6H_5NH_2$ يحوي على زمرة $-NH_2$ هي زمرة مانحة حاوية على زوج الكتروني حر يعمل على زيادة الترافق والصيغ الطنينية وبالتالي زيادة الاستقرار لكن حركية الزوج الالكتروني تكون أقل من حركية الشحنة السالبة لذلك طول الموجة له أقل.

جواب أحد التعليل:

الطاقة الطيفية = طول الموجة

* علل: سبب انزياح العصابة الطيفية من 255 إلى 270 ،
بسبب وجود الترافق ما بين الزوج الالكتروني والحلقة العطرية.

* الترافق = الصيغ الطنينية ← زيادة ثباتية المركب.

يؤدي ارتباط مجموعة أوكسوكرومية بكروموفور إلى إزاحة امتصاصات الكروموفور حسب لفعلين التاليين:

❖ الفعل الباثو كرومي **bathochromic shift**:

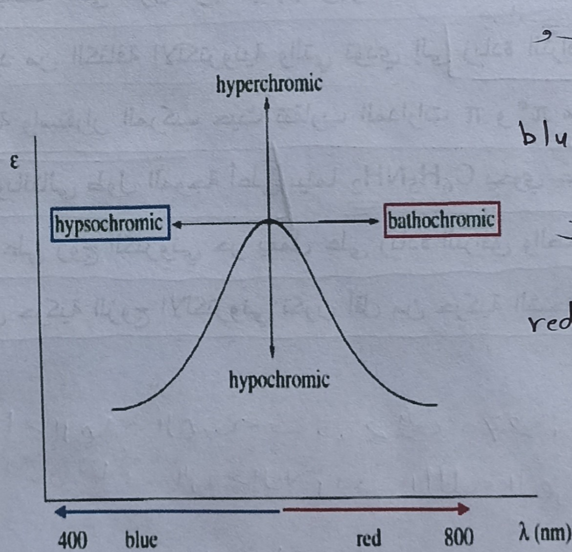
هو الفعل الذي يؤدي إلى انزياح العصابة المميزة لحامل اللون نحو الأطوال الموجية الأطول (نحو الأحمر).

❖ الفعل الهيبثو كرومي **hypsochromic shift**:

هو الفعل الذي يؤدي إلى انزياح العصابة المميزة لحامل اللون نحو الأطوال الموجية الأقصر (نحو الأزرق).

الفعل **Hyperchromic shift** أي يحدث زيادة في شدة الامتصاص

والفعل **Hypochromic shift** أي يحدث نقصان في شدة الامتصاص.

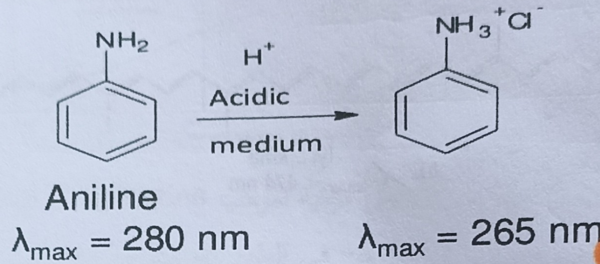


* ماهو الفعل الحاصل بين الأنيلين و زمرة النشادر NH_3 ؟
blue shift أو hypsochromic

* ماهو الفعل الحاصل بين البنزن و فينوكسيد البنزن ؟
red shift أو bathochromic

2 • Hypsochromic Shift (Blue Shift)

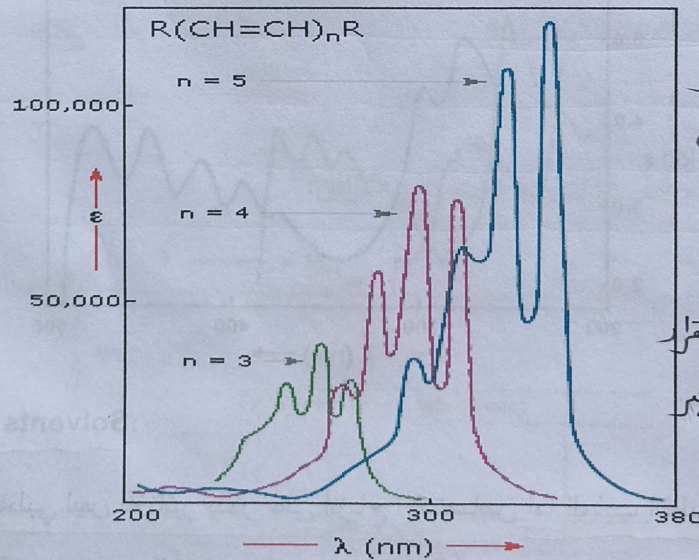
• Aniline shows blue shift in acidic medium, it loses conjugation.



* علل: انزياح الطاقة في الأعلى إلى الأقل.
بسبب إلغاء الترافق و تشكل الشحنة الموجبة والشحنة الموجبة تدل على طول الموجة الأقل.

3- الترافق Conjugation:

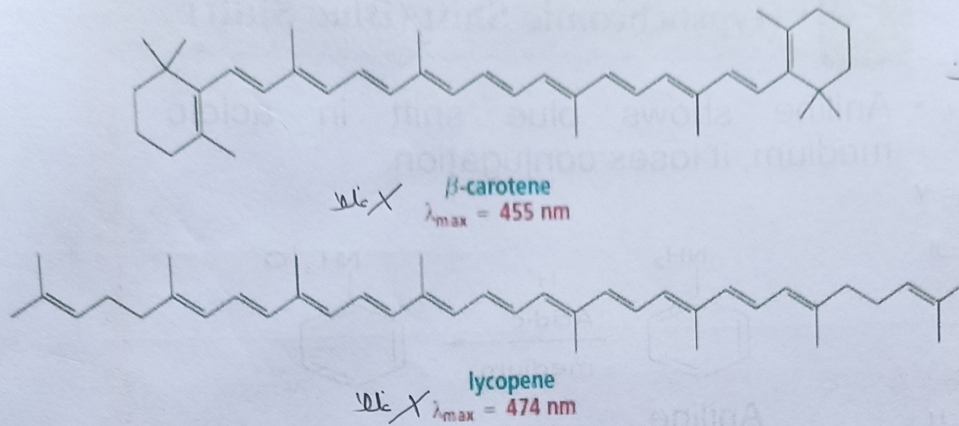
يتأثر معامل الامتصاص بالترافق، حيث تزداد قيمة معامل الامتصاص بزيادة درجة الترافق في الجزيء، نظراً للثبات الإضافي ل π^* مما يؤدي إلى نقص طاقة الانتقال $\pi \rightarrow \pi^*$، وبالتالي الانزياح نحو الأطوال الموجية الأكبر (نحو الأحمر).



* لدينا مركبين أحدهما لديه ترافق والآخر ليس لديه ترافق أيهما لديه طول موجة أعلى؟
المركب الذي يحوي ترافق لأنه كلما ازداد الترافق يزداد ثبات المدارات فيزداد الاستقرار وبالتالي يصبح طول الموجة أكبر

Scanned with ACE Scanner

*كلما ازداد عدد الروابط الثنائية و فيها ترافق يكون طول الموجة أكبر.

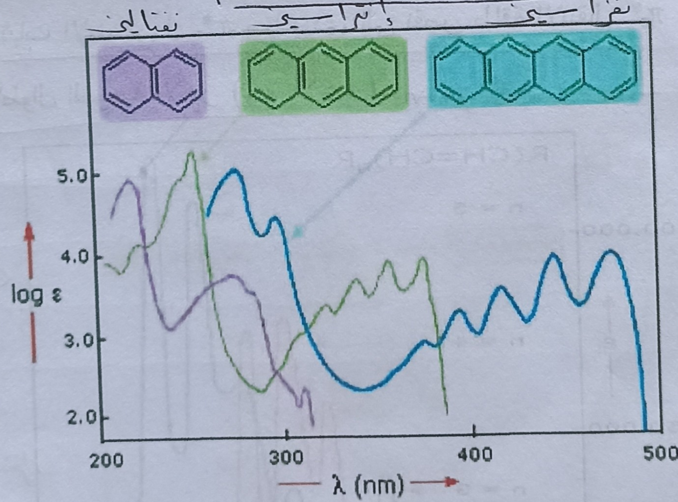


4- العطرية Aromaticity:

*علل: انزياح العصابة الطيفية نحو الأطوال الموجية الأقصر إلى الأعلى.

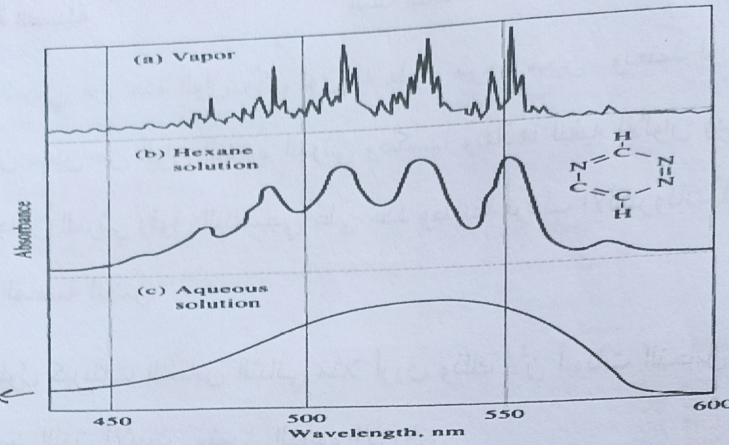
من المعلوم أن العطرية تضفي على المركب ثباتاً كبيراً حيث تقل طاقة ال π^* بشكل ملحوظ، مما يؤدي إلى نقص طاقة الانتقال $\pi \rightarrow \pi^*$، وبالتالي الانزياح نحو الأطوال الموجية الأكبر (نحو الأحمر)(ويزداد الطول الموجي بزيادة عدد الحلقات العطرية).

نفتالين	أنتراسين	نفتاسين



5- المذيبات Solvents:

المذيب غير القطبي ليس له تأثير يُذكر على انزياح الامتصاص أما المذيب القطبي يُزيح عصابة الامتصاص: $n \rightarrow \pi^*$ نحو الأزرق و $\pi \rightarrow \pi^*$ نحو الأحمر



أطياف امتصاص مرئية لمركب 1,2,4,5-Tetrazine

a- في الطور الغازي.

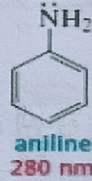
b- في المذيب غير القطبي (محلول الهكسان).

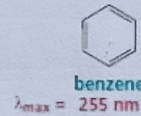
c- في المذيب القطبي (محلول مائي).

*تحليلياً يجب أن يكون الطيف بشكل قمة متوسطة كما في حالة الماء لذلك يكون المذيب القطبي هو الوحيد الذي يعطي أطوال موجية ممكن دراستها.

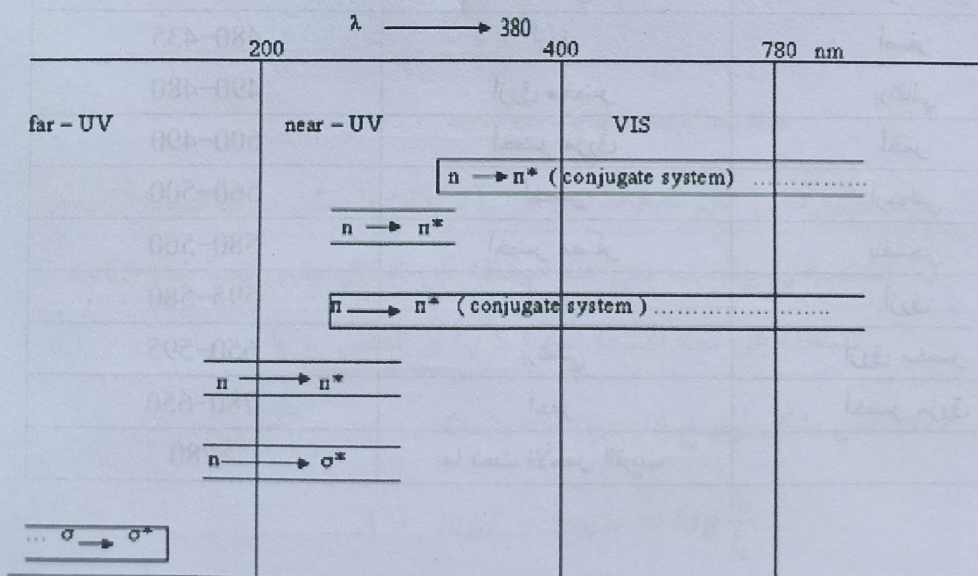
مثال انزياح الأطوال الموجية وفق الفعل bathochromic shift.

1- انزياح طول الموجة الامتصاص لمركب البنزن لدى ارتباطه بزمرة أوكسوكروم NH_2.



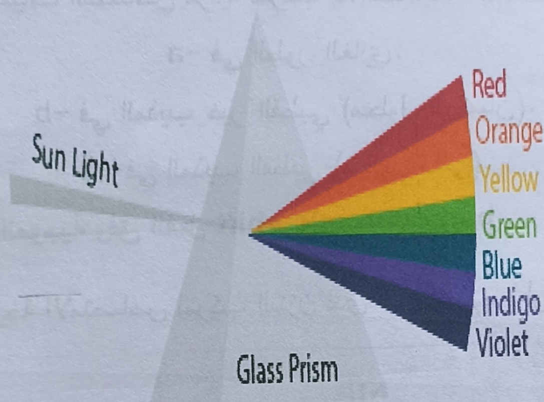


2- مناطق الانتقالات الالكترونية تحت تأثير الترافق:



يتكون الضوء المرئي من عدة ألوان وكل لون له طول موجة معين. ويعتمد لون مادة ما على امتصاصها للون معين من ألوان الضوء المرئي وعكسها ونفاذها لبقية الألوان ويعتمد امتصاص الأشعة في المجالين المرئي وفوق البنفسجي على عدد وطريقة ترتيب الالكترونات الرابطة لجزيئات وأيونات المادة الماصة للضوء

مثال: يبدو محلول كبريتات النحاس الثنائي مثلاً أزرق وذلك لأن أيونات النحاس الثنائي تمتص اللون الأصفر من اللون الأبيض وتمرر الضوء الأزرق.



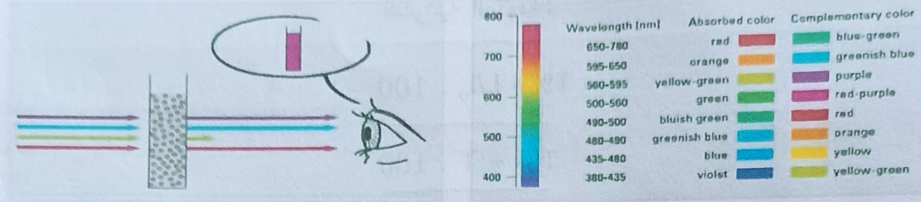
المدى التقريبي لأطوال موجات ألوان الضوء المرئي

طول الموجة الممتص (nm)	اللون الممتص	اللون النافذ (المتمم)
<380	ما فوق بنفسجي	
435-380	بنفسجي	أخضر مصفر
480-435	أزرق	أصفر
490-480	أزرق مخضر	برتقالي
500-490	أخضر مزرق	أحمر
560-500	أخضر	أرجواني
580-560	أخضر مصفر	بنفسجي
595-580	أصفر	أزرق
650-595	برتقالي	أزرق مخضر
780-650	أحمر	أخضر مزرق
>780	ما تحت الأحمر القريب	

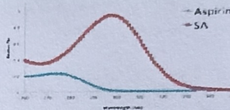
ما شرحتوا الدكتورة

Characteristic Spectrum

When visible light goes through a cuvette filled with solution sample containing **pure individual element**, a certain wavelength light will be absorbed rather than a continuous range of wavelengths, and the human eye sees the **complementary color** to that which is absorbed.



The maximum absorption of acetylsalicylic acid in solution
λ_{max}: 250~290nm



العلاقة بين الامتصاصية و النفاذية والتركيز(قانون بيير-لامبرت):

إذا سقطت حزمة من الأشعة في المجالين (UV-VIS) على محلول العينة فإن جزء منها سوف يمتص من قبل جزئيات المادة والجزء الآخر سوف ينفذ وشدة الأشعة النافذة I_t أقل دوماً من شدة الأشعة الواردة I_o.

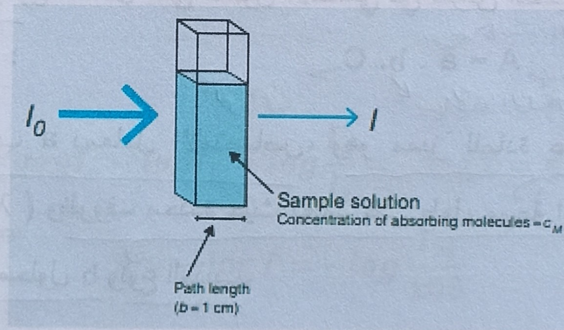


Figure 7.1 Beer's law – absorption of radiation

ونظراً لأننا لا نستطيع قياس القيم المطلقة لكل من I_o و I_t لذا لا يمكن معرفة القيمة المطلقة لشدة الأشعة الممتصة I_a، وللتغلب على هذه المشكلة فإن المقدار يقيس نسبة شدة الأشعة الساقطة إلى شدة الأشعة النافذة I_o/I_t أو العكس I_t/I_o .

ويمكن فهم الامتصاص بشكل أوضح إذا عبرنا عنه بالعلاقة:

$$A = \log I_o - \log I_t = \log \frac{I_o}{I_t}$$

أما النسبة I_t/I_o فتسمى النفاذية ويرمز لها T، ولذلك فإن $I_t/I_o \times 100$ تسمى النسبة المئوية للنفاذية ويرمز لها T%. أي

$$T = I_t/I_o$$

النفوذية المئوية:

$$T\% = I_t/I_o \cdot 100$$

$$T\% = T \cdot 100$$

أما العلاقة بين الامتصاصية والنفوذية تحسب كما يلي:

$$A = -\log T$$

لقد وجد العالم لامبرت Lambert أن الامتصاص يتناسب طرداً مع طول مسار الأشعة داخل المحلول (b) بالسنتيمتر: $A \sim b$

بينما وجد العالم بيير Beer أن الامتصاص يتناسب طرداً مع التركيز C: $A \sim C$

وبدمج العلاقتين السابقتين نحصل على القانون الأساسي في طرائق التحليل الطيفي والذي يعرف بقانون بيير –لامبرت:

$$A = a \cdot b \cdot C$$

ثابت التناسب — سماكة الخلية أو طول المسار الضوئي — التركيز

ويعرف ثابت التناسب a بمعامل الامتصاص، وهو مميز للمادة عند طول موجة معينة (في الغالب عند λ_{max}) وظروف محددة حيث يعتمد على طول موجة الأشعة الممتصة وطول مسار الأشعة داخل المحلول b ونوع المذيب.

يعبر عن ثابت التناسب بطريقتين حسب واحدة التركيز:

1- الامتصاصية المئوية A (1%, 1cm):

هو امتصاصية محلول عياري من المادة الدوائية بتركيز 1gr في 100ml موضوع في خلية سماكتها 1cm عند طول موجة الامتصاص الأعظمي.

$$A = A(1\%, 1cm) \times b \times C$$

أي يعبر عن التركيز هنا بواحدة gr/100ml أو gr%.

2- معامل الامتصاص الجزيئي (المولي):

عند استخدام المولية للتعبير عن التركيز فإن معامل الامتصاص يسمى في هذه الحالة بمعامل الامتصاص الجزيئي ويرمز له بالرمز ε وواحدته $Liter\ mol^{-1}\ cm^{-1}$.

$$A = \varepsilon . b . C$$

$$\varepsilon = \frac{A}{b.c}$$

إن معامل الامتصاص الجزيئي لكثير من المواد معروفة جيداً مثلها مثل درجات الغليان ومعاملات الانكسار، وتتراوح قيم معامل الامتصاص الجزيئي بين $10^{-2} - 10^{5}$ $Liter\ mol^{-1}\ cm^{-1}$ ،

تدل قيمة معامل الامتصاص على مدى حساسية طرائق الامتصاص بالنسبة للمادة حيث أنه كلما كان ذلك المعامل كبيراً كلما كان الامتصاص كبيراً وكلما أمكن تقدير تراكيز منخفضة جداً من تلك المادة أي يمكن تقدير تلك المادة بحساسية عالية والعكس صحيح. نستنتج من ذلك أن قانون بيير ينطبق فقط على الأشعة أحادية الموجة، والقيمة العددية لمعامل الامتصاص تعتمد على الوحدة المستخدمة لقياس التركيز حيث يعبر عن التركيز كما نعلم بجزء من المليون ppm أو ملغ/لتر أو المولية.

تصبح علاقة الامتصاصية:

$$\boldsymbol{A = logI_o - logI_t = log\frac{I_o}{I_t} = -\log T = \varepsilon . b . C}$$

$$\boldsymbol{A = -\log T = -log\frac{T_{\%}}{100}}$$

العوامل المؤثرة على كمية الأشعة الممتصة من قبل جزيئات أو أيونات مادة ما في المحلول:

- ❖ عدد هذه الجزيئات أو الأيونات الموجودة في مسار الأشعة (كلما زاد التركيز كلما زاد الامتصاص وقلت النفاذية وفق قانون بيير.)
- ❖ وبالإضافة لطول مسار الأشعة داخل المحلول.
- ❖ العامل الثالث الذي يتحكم في كمية الامتصاص هو احتمال حدوث الانتقالات الالكترونية الناتجة عن الامتصاص فكلما كان هذا الاحتمال كبيراً كلما زاد الامتصاص والعكس

صحيح. وهذا يعني أن الامتصاص (أو النفاذية) تعتمد على طول موجة الأشعة الساقطة على المحلول.

جهاز التحليل الطيفي الضوئي في المجالين UV-VIS

هو مقياس طيفي يعمل ضمن المجالين المرئي وفوق البنفسجي ويسمى spectrophotometer و يتألف الجهاز من الاقسام الرئيسية الآتية:

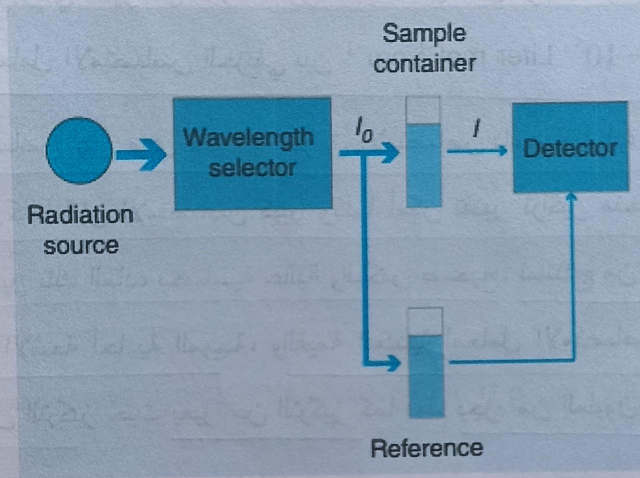
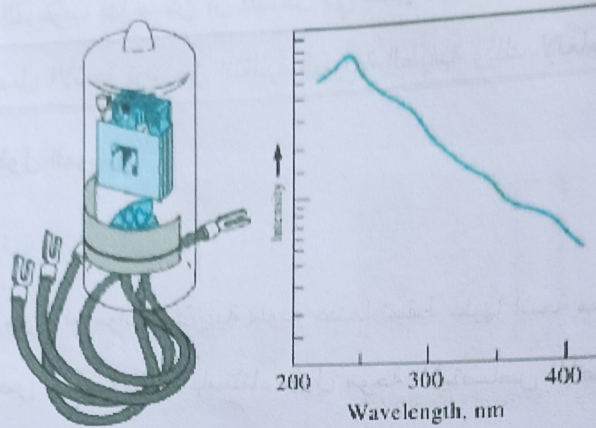


Figure 7.9 *Schematic view of a double-beam spectrophotometer*

1- المصدر الضوئي: ويختلف تبعاً لنوع الأشعة:

تعد لمبة الهيدروجين أو لمبة الديتيريوم (نظير الهيدروجين) أو لمبة بخار الزئبق من أكثر المصادر شيوعاً للحصول على هذا النوع من الأشعة في مجال UV.

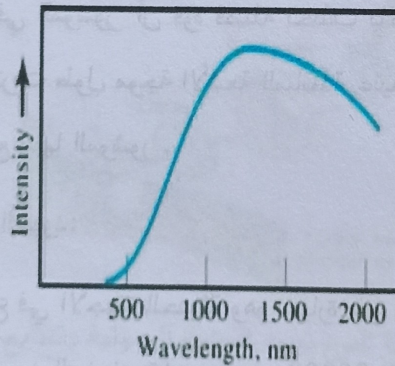
يتكون مصباح الديوتيريوم من انتفاخ من الكوارتز ، يحتوي على بعض الديوتيريوم ، وقطبين معدنيين لتمرير تيار. وبمجرد مرور تيار كاف بين القطبين ، فإن بعض جزيئات الديوتيريوم تنتقل من الحالة الأرضية إلى الحالة المثارة ، ثم تعود إلى الحالة الأرضية بعد أن تتفكك ، وينبعث شعاع من الأطوال الموجية في المدى من 180 إلى 350 nm. (أو من 200 إلى 400)

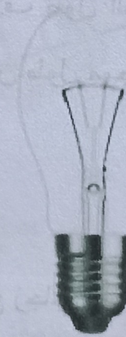


لمبة (مصباح) التنغستين: من أفضل المصادر للأشعة المرئية والأشعة تحت الحمراء القريبة.

Vis (400-800
IR (350-2500
أو 400

ويتكون هذا المصباح من انتفاخ زجاجي مفرغ من الهواء ، ويحتوي على خيط (***filament***) دقيق من التنجستن (يتحمل حرارة عالية جداً). وعندما يمر تيار في خيط التنجستن فإنه يسخن ويتوهج ، معطيا طيفا مستمراً من الأطوال الموجية من ***340-2500nm***، أي ما يغطي كامل منطقة الضوء المرئي ويمتد جزئياً إلى منطقة الأشعة تحت الحمراء القريبة. وتصل درجة حرارة الخيط إلى ما يزيد عن ***3000K***.





2. موحد طول الموجة (Monochrometer):

وظيفة هذا الجزء من الجهاز فصل الاشعة الساقطة عليه حسب طول موجتها. وهناك سببين لفصل الأشعة الساقطة إلى حزمة ضيقة السبب الأول أن حساسية طريقة مطيافية الامتصاص الجزيئي تزداد عندما يتم الدراسة عند طول الموجة التي تمتص عندها المادة المراد تحليلها والسبب الثاني

أن الأشعة غير المرغوب بها ممكن أن تتداخل في عملية القياس مسببة حيود قانون بيير لامبرت لذا فإن عملية فصل الأشعة تزيد من انتقائية الطريقة الطيفية وذلك لإلغاء التدخلات.

أنواع موحدات طول الموجة:

المرشح:

عبارة عن زجاج ملون أو مواد جيلاتينية ملونة عندما تسقط عليها أشعة مستمرة ذات أطوال موجية متعددة فإنها تمتص جميع الأشعة باستثناء طول موجة الامتصاص الأعظمي الذي تمتص عنده المادة المدروسة حيث يسمح بتمريره. هذا النوع بسيط ولكن ليس له القدرة على تمرير أو فصل حزم ضيقة جداً من الطيف أي قوة فصله ضعيفة جداً.

الموشور:

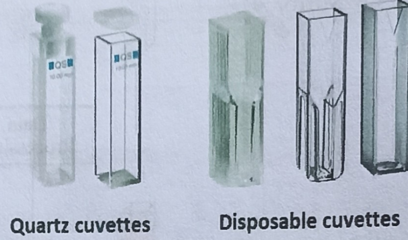
يعتبر من أكثر موحدات طول الموجة استخداماً عندما تمر حزمة من الأشعة المستمرة خلال الموشور فإنها تتكسر من مسارها الأصلي حسب طول موجتها بحيث الأشعة ذات الطول الموجة القصير تنكسر بشكل أكبر من الأشعة ذات الموجات الطويلة لأن معامل انكسار الموشور يتناسب عكساً مع طول موجة الأشعة المارة خلاله.

العيب الرئيسي في الموشور أن قوة فصله تختلف باختلاف طول الموجة حيث تزداد قوة فصل الموشور كلما اقتربت طول موجة الأشعة الساقطة عليه من طول موجة الأشعة التي تمتص عنده المادة التي يصنع منها الموشور.

محزوز الحيود:

يستخدم هذا النوع في الأجهزة الحديثة وهو عبارة عن لوح زجاجي أو معدني شفاف محفور على سطحه عدد كبير من الحزوز يتراوح ما بين 30000-15000 في المجال المرئي وفوق البنفسجي تبعاً لجودة المحزوز. وهذه الحزوز متقاربة ومتوازية بحيث أن المسافة بينها متساوية. إن عملية فصل الأشعة من قبل محزوز الحيود تتبع قوانين الحيود أي أن الأشعة المستمرة الساقطة على محزوز الحيود يتم فصلها بحيث أن الأشعة ذات الأطوال الموجية المختلفة تنحرف عن مسارها الأصلي عند زوايا انحراف مختلفة.

3. **خلية العينة (Cell)**: تستخدم الخلايا المصنوعة من الزجاج عند التحليل في المجال المرئي أما في المجال فوق البنفسجي فتستخدم خلايا مصنوعة من الكوارتز.

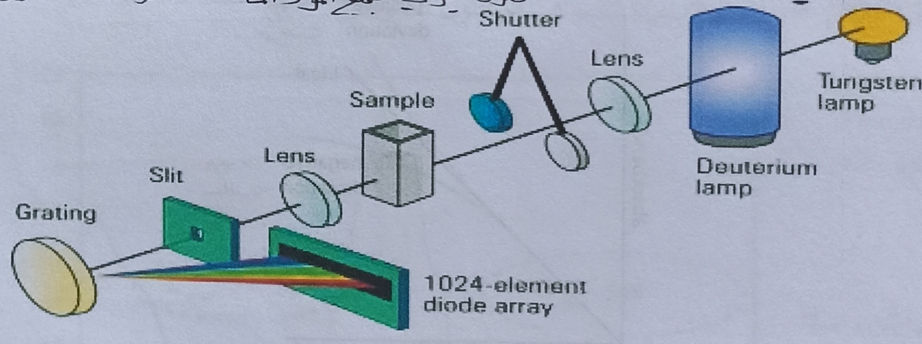


4. **الكاشف (Detector)**: يستعمل لقياس كمية الضوء الخارجة من خلية العينة(الساقطة عليه) وعادة يحول الكاشف الشدة الضوئية إلى إشارة تحليلية وهو خلية كهرضوئية. وبشكل عام تكون معظم الأجهزة موصولة بالحاسوب.

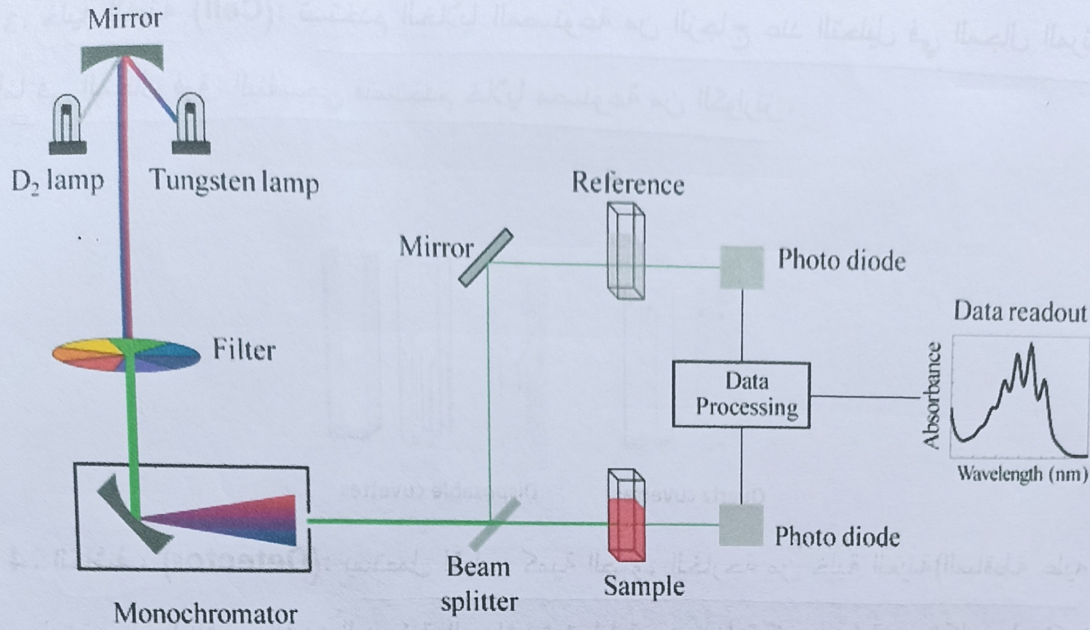
هناك نوعان من الأجهزة:

1) – جهاز التحليل الطيفي أحادي الحزمة: لقد قل استخدام هذا النوع، لأنه يتطلب إجراء أكثر من ضبط للجهاز بالنسبة لمحلول ال (Blank) أثناء العمل.

محلول يحوي جميع المواد المضافة ماعدا المادة المدروسة.



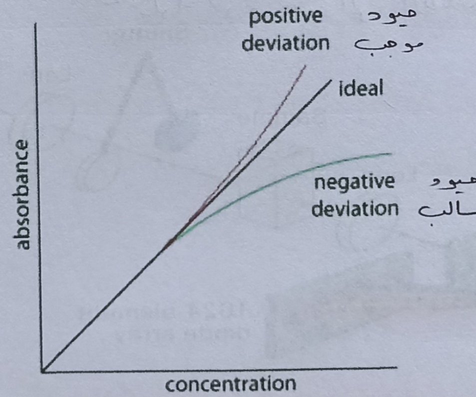
2) – جهاز التحليل الطيفي ثنائي الحزمة: بهذا النوع توجه الحزمة الضوئية بالتتابع نحو خلية العينة المدروسة ونحو خلية الBlank، حيث توجد مرآة دوّارة.



مخطط يوضح أجزاء جهاز التحليل الطيفي الضوئي ثنائي الحزمة

الحيود عن قانون بيير لامبرت:

ذكرنا سابقاً أن العلاقة بين الامتصاصية والتركيز علاقة خطية إلا أن هناك بعض العوامل التي تجعل هذه العلاقة تحيد عن الخطية نحو الأعلى (حيود إيجابي) أو نحو الأسفل (حيود سلبي).



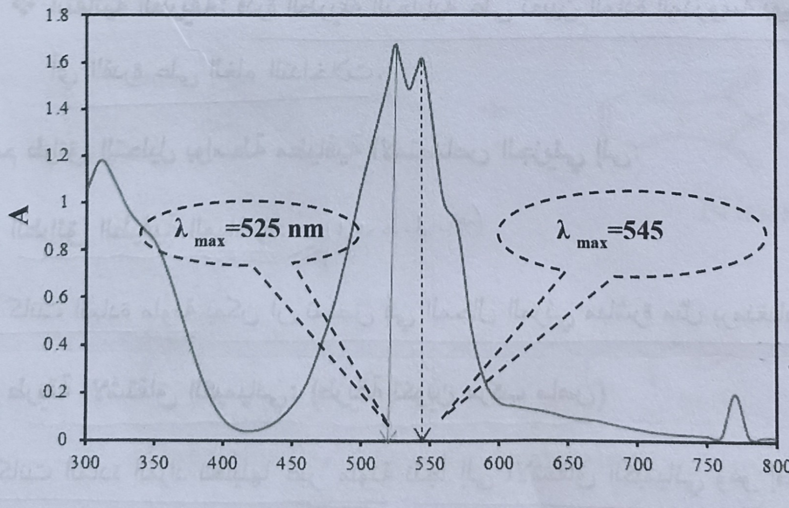
ومن الأسباب التي تؤدي إلى الحيود والانزياح عن الخطية هو الدراسة عند التراكيز العالية والتي تتجاوز 0.01M لأنه في التركيز العالي ممكن أن تتداخل بعض الظواهر الضوئية مؤدية إلى الانحراف عن الخطية مثلاً ممكن عندما يسقط الضوء على جزئيات المادة الفعالة ذات التركيز العالي أن يصطدم بها ويحدث تشتت أو تبعثر للضوء والجهاز لا يستطيع التخلص منها لذلك نلجأ إلى تمديد العينة حتى تقع ضمن مجال الخطية.

أيضاً هناك **الحيود الآلي** يحدث بسبب الأخطاء الناتجة عن انعكاس الأشعة الساقطة على وعاء الخلية أو نتيجة تغير شدة أشعة المصدر (المنبع) والتي يمكن تلافيها باستخدام جهاز ثنائي الحزمة. يجب أن يعطي الجهاز الطيفي أشعة ذات طول موجة محدد عن طريق موحد طول الموجة وغالباً لا نستطيع الحصول على أشعة أحادية طول الموجة وإنما حزمة ضيقة وهذا يؤدي إلى انحراف سلبي.

الحيود الكيميائي هو أكثر تأثيراً من الحيود الآلي يحدث نتيجة لتغير في التركيب الكيميائي للمادة المدروسة مثلاً عندما تتغير قيمة pH الوسط أي تتأين المادة ونحصل على شكل متشرد وغير متشرد مؤدي إلى انزياح طول الموجة الأعظمي.

استخدام مطيافية (UV–VIS) في التحديد النوعي للمركبات:

تحدد المواد المختلفة نوعياً من خلال سحب طيفها ومقارنة عصابات الامتصاص مع أطلس الطيوف للمواد فمثلاً يمتلك برمنغنات البوتاسيوم عصابتي امتصاص عند الموجتان التاليتين: عصابة عظمى عند طول الموجة 525nm تليها عصابة أصغر منها عند 545nm فإذا سحبنا طيف لمادة ما بين 200–800nm ووجدنا أن الطيف يحوي على نفس عصابات الامتصاص وبنفس الشكل قلنا أن هناك برمنغنات في المحلول المدروس.



طيف الامتصاص للبرمنغنات البوتاسيوم

Scanned with ACE Scanner

تعاريف هامة:

❖ **المسح الطيفي**: دراسة العلاقة بين الامتصاصية وطول الموجة ضمن المجال (200–800nm) للحصول على طول موجة الامتصاص الأعظمي.

❖ **طول الموجة الأعظمي λ_{max}**: هو الطول الموجي الموافق لأعلى قيمة للامتصاص وتكون عندها حساسية الطريقة أعلى ما يمكن.

❖ يتم إجراء المسح الطيفي من الأطوال الأعلى إلى الأطوال الموجية الأقل لأن طاقة الإشعاع تتناسب عكساً مع طول الموجة. لأن الطاقة العالية يمكن أن تخرب المادة أو تغير في بنيتها.

❖ عند إجراء عملية التحليل في المجال UV (200–400nm) نستخدم خلايا الكوارتز لأنها لا تمتص أشعة UV بينما في عند الدراسة في المجال VIS (400–800nm) يمكن استخدام الخلايا الزجاجية.

❖ **حساسية الطريقة**: قدرة الطريقة التحليلية على تعيين تراكيز منخفضة جداً من المادة. تتراوح حساسية مطيافية (UV–VIS) ضمن المجال $M(10^{-6} - 10^{-4})$.

❖ **انتقائية الطريقة**: قدرة الطريقة التحليلية على تعيين المادة المدروسة بوجود خلفية مشوشة أي القدرة على إلغاء التداخلات.

تقسم طرائق التحليل بواسطة مطيافية الامتصاص الجزيئي إلى:

1- الطرائق الطيفية المباشرة:

إذا كانت المادة ملونة يمكن أن تمتص في المجال المرئي مباشرة مثل برمنغنات البوتاسيوم.

2- طريقة الاشتقاق الكيميائي: (طريقة تكوين مركب ماص)

إذا كانت المادة المراد تحليلها غير ملونة نلجأ إلى الاشتقاق الكيميائي وهو إضافة مركب يدعى الكاشف الطيفي يتفاعل مع المادة الدوائية دون تخريبها أو شطرها لكن يعتمد على تغيير أو الارتباط بوظيفة جانبية في المركب كمجموعة الكربوكسيل أو الفينول أو الأمين أو إدخال جذر صغير بحيث نحصل على مركب ملون، بحيث يتناسب امتصاص المركب الناتج مع تركيز المادة

الأصلية. نلجأ إلى الاشتقاق الكيميائي عندما تكون المادة الدوائية غير ماصة للضوء ضمن مجال (UV–VIS) أو من أجل إلغاء التداخل في الأطوال الموجية الذي ممكن أن يحدث بين المادة الفعالة والسواغات الموجودة في الشكل الصيدلاني أو عندما تتواجد مادة فعالة ثانية. وعندما تكون الطريقة التحليلية حساسيتها منخفضة نلجأ للاشتقاق لزيادة الحساسية.

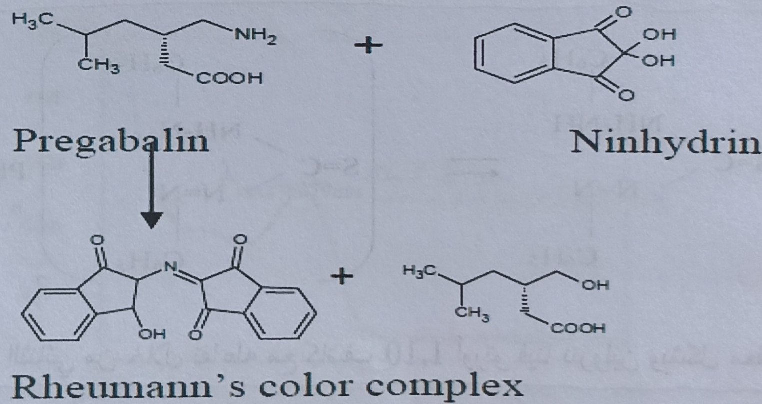
أمثلة: أولاً: المركبات الدوائية التي تحتوي على زمر أمينية:

نستخدم كاشف Ninhydrin هو انتقائي للأمينات الأولية والثانوية حيث يشكل معقدات بنفسجية تملك امتصاص عند λ_{max}=566nm. حفظ

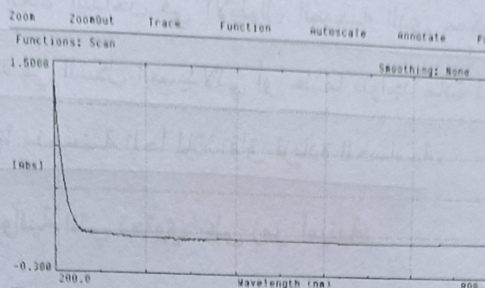
–تحديد المادة الدوائية **Pregabalin** خلال تفاعلها مع كاشف Ninhydrin حيث يتشكل لدينا Ruhemenn's Purple (معقد روهمان)



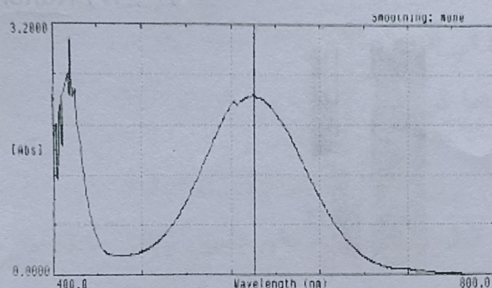
آلية التفاعل الحاصل:



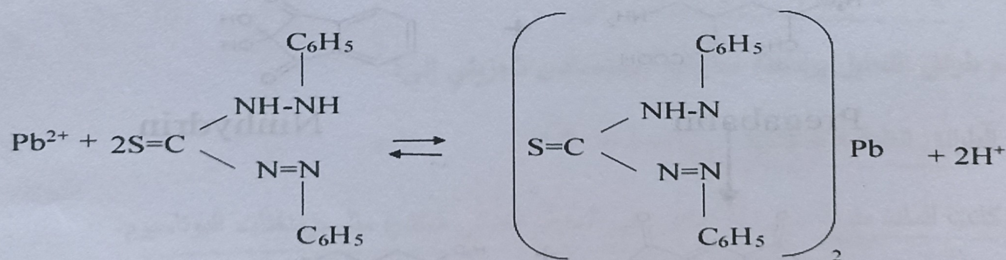
Eurasian J Anal Chem 8(2): 90-98, 2013


Fig. 1. UV scan spectra of pregabalin in distilled water

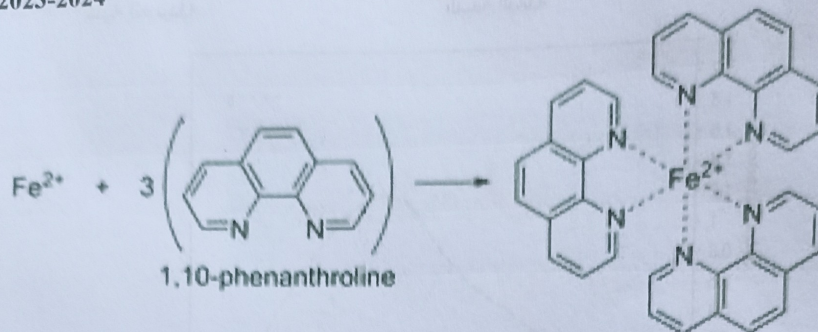
UV absorption of pregabalin is in lower range and exhibits λ_{max} at 210 nm and therefore, is less sensitive to UV spectrophotometric methods (Fig. 1). In this study, an


Ruhemann's purple complex

– تحديد أيونات الرصاص الثنائي من خلال عملية الاشتقاق الكيميائي حيث يتفاعل مع كاشف ديتيزون ويشكل معقد أحمر اللون يملك طول موجة امتصاص أعظمية عند λ_{max}=520nm.



– تحديد الحديد الثنائي من خلال تفاعله مع كاشف 1,10 أورتو فينا نترولين ويشكل معقد أحمر اللون يملك طول موجة امتصاص أعظمية عند λ_{max}=510nm.



3- طرائق طيفية غير مباشرة: منها تفاعلات الأكسدة والإرجاع:

مثال: تحديد المادة الدوائية **lamivudine** من خلال أكسدتها بمادة برمنغنات البوتاسيوم في وسط قلوي من هيدروكسيد الصوديوم.

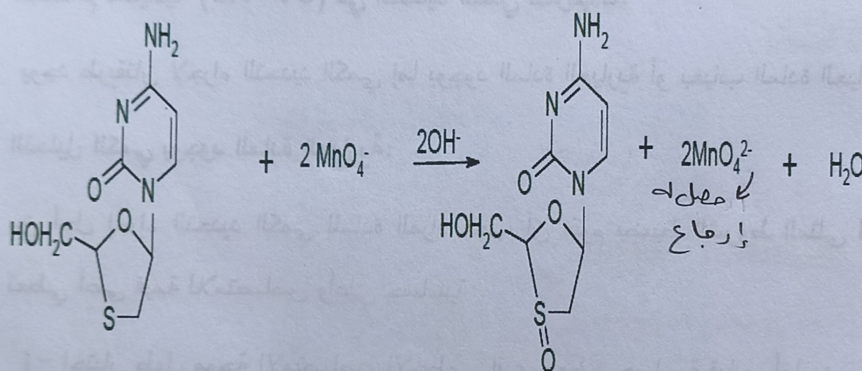
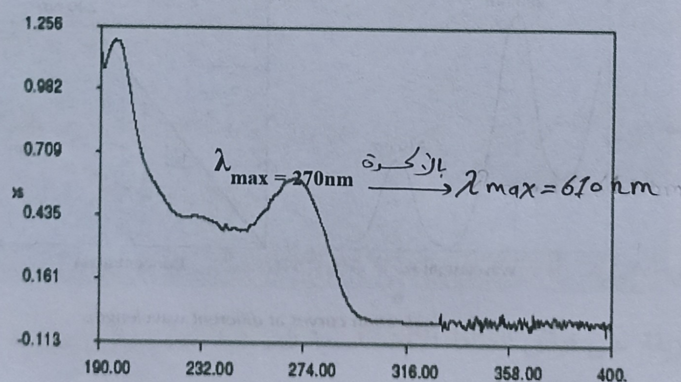
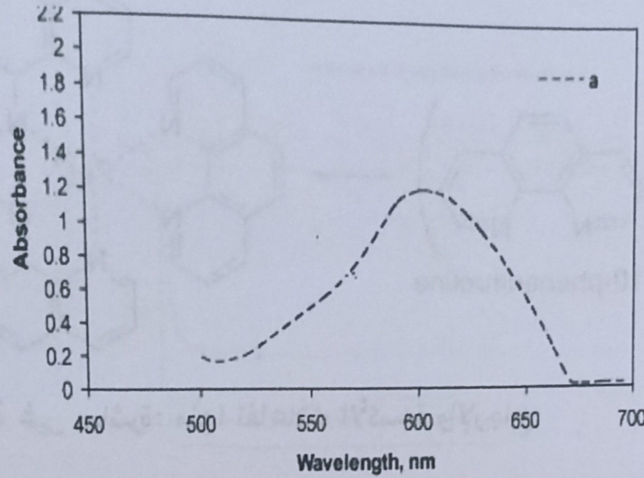


Figure-1: UV Spectrum of Lamivudine in 0.1N HCL





المسح الطيفي لأيونات المنغنات الخضراء

استخدام مطيافية (UV-VIS) في التحديد الكمي للمركبات:

يوجد طريقتان لإجراء التحديد الكمي إما بوجود المادة العيارية أو بغياب المادة العيارية.

التحليل الكمي بوجود المادة العيارية:

من أجل إجراء التحديد الكمي للمادة المراد يجب أن نقوم بضبط الشروط المثلى للقياس والتي تعطي أعلى قيمة للامتصاص وأعلى حساسية:

1- اختيار طول موجة الامتصاص الأعظمي الذي يعطي حساسية قياس أعلى:

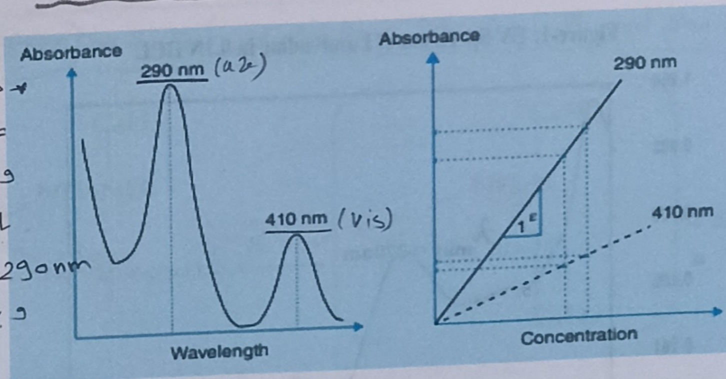


Figure 7.10 Calibration curves at different wavelengths

2- طبيعة المذيب المستخدم:

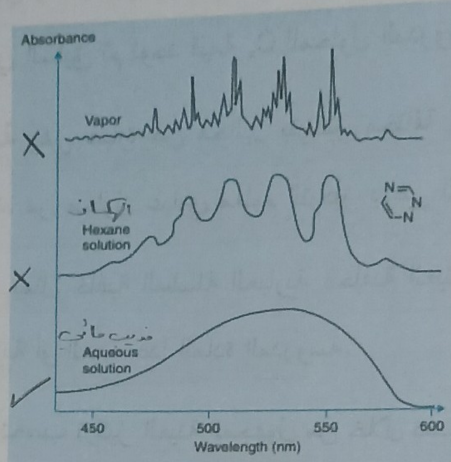


Figure 7.3 Absorption spectra of 1,2,4-triazine in vapour, hexane, and water

3- قيمة pH الوسط:

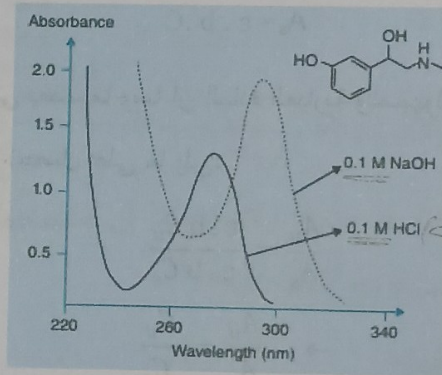


Figure 7.4 Absorption of radiation is dependent on pH. The UV spectra of phenylephrine in 0.1 M NaOH and in 0.1 M HCl

بالإضافة لضبط زمن التفاعل ودرجة الحرارة تركيز الكاشف وتطبق الشروط المثلى للسلسلة العيارية والعينة.

طريقة المنحني العياري Calibration Curve Method

تعتمد هذه الطريقة على قياس الكثافة الامتصاصية الضوئية لعدة محاليل عيارية (سلسلة عيارية) لنفس المادة المدروسة وبنفس الشروط، وذلك عند طول موجة محدد وليكن λ_{max} فنحصل على قيم الكثافة الامتصاصية الضوئية A_i المقابلة للتركيز C_i. ثم نمثل هذه القيم بيانياً على محوري C – A ثم نرسم الخط المستقيم الواصل بين تلك النقاط المحددة. إن هذا الخط البياني يسمى الخط

العياري $A = f(C)$ ثم نقيس A_x للمحلول المدروس (المجهول التركيز) بنفس الشروط ونعوض قيمة A_x على الخط العياري السابق ثم نوجد قيمة C_x للمحلول المدروس الشكل.

ملاحظة: السلسلة العيارية وهي عبارة عن محاليل بتراكيز مختلفة بالنسبة للمادة الفعالة المراد تحليلها وتحضر عادة ابتداء من محلول عياري معلوم التركيز يدعى المحلول الأم.

محلول البلانك (الشاهد): يمثل خلفية السلسلة العيارية «خلفية العينة» وهو يحوي كافة المواد المضافة إلى السلسلة العيارية أو العينة عدا المادة المدروسة.

هنا لدينا احتمالين إما ان: نحسب تركيز العينة المجهول من خلال نسب معطيات العينة المجهولة (unknown) إلى معطيات محلول عياري معلوم التركيز (standard) لنفس المادة.

$$A_u = \varepsilon \, . \, b \, .C$$

$$A_s = \varepsilon \, . \, b \, .C$$

وبنسب هاتين العلاقتين إلى بعضهما وبما أن المادة العيارية والمجهولة نفسها بالتالي يكون ε نفسه وقيمة سماكة الخلية $b=1$ نحصل على ما يلي:

دائماً

$$\frac{A_u}{A_s} = \frac{\varepsilon . b\, C_u}{\varepsilon . b\, C_s}$$

$$\rightarrow \quad \frac{A_u}{A_s} = \frac{C_u}{C_s}$$

$$\rightarrow \quad C_u = C_s \times \frac{A_u}{A_s}$$

حفظ **تركيز العينة** = $\dfrac{\text{امتصاصة العينة}}{\text{امتصاصية العياري}}$ × **تركيز المحلول العياري**

أو ممكن أن يحسب التركيز العينة المجهول حسابياً من العلاقة: $A=mx$ حيث يحسب الميل لكل ستاندر (محلول عياري) ثم يحسب الميل الوسطي بعد ذلك نعوض امتصاصية العينة في العلاقة $A=\bar{m}\,x$ ونحسب تركيزها.

[أي الميل الوسطي يساوي مجموع الميول على عددها]

أو بيانياً من العلاقة التي ترسم بين الامتصاصية والتركيز وهي علاقة خط مستقيم من الشكل:

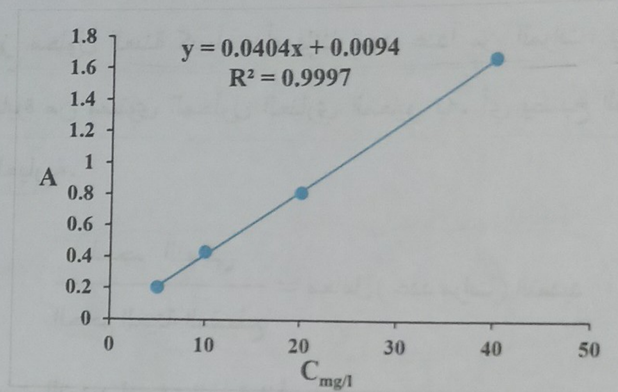
$$y = \bar{m}\,x \pm b$$

حفظ $C_{x(mg/L)} = \frac{A \pm b}{m}$ واحدة التركيز نفس واحدة السلسلة المعطاة مثلث : mg/L
ويمكن أن تطلب التركيز بواحدة mol/L فيجب أن نحول

m: ميل العلاقة الخطية، b: الخطأ المرتكب

قانون بيير لامبرت ليس خطياً بالمطلق حيث يحدث انحراف موجب أو سالب لذلك نقوم بتحديد الجزء الخطي وإيجاد تركيز العينة المجهولة من خلاله.

مسألة: يراد تحليل عينة البلازما لتحديد تركيز أيونات الرصاص من أجل ذلك تم تحضير سلسلة عيارية لمحاليل أيونات الرصاص وقياس امتصاصيتها ورسم العلاقة البيانية وفق ما يلي:



المطلوب إيجاد تركيز الرصاص في عينة البلازما علماً أن امتصاصيتها A_u=0.640 وتركيز المحلول العياري 20mg/l وامتصاصيته A_s=0.807؟ C_s = 20mg/L

طريقة أولى: إما أن نطبق القانون: (طريقة نسب المعطيات)

$$\frac{A_u}{A_s} = \frac{\varepsilon . b\, C_u}{\varepsilon . b\, C_s}$$

$$C_u = 20 \times \frac{0.640}{0.807}$$

$$C_u = 15.8612 mg/l$$

طريقة ثانية: من الشكل البياني تكون معادلة الخط: (طريقة السلسلة العيارية)

y= 0.0404x + 0.0094 (y: A, x: C) $y = A_u$

حيث y تمثل الامتصاصية و x تركيز المجهول

هنا نعوض امتصاصية العينة في المعادلة

0.64= 0.0404x + 0.0094 وبالتالي

x =15.6089mg/l

علل/ إن طريقة الخط العياري هي أفضل الطرائق المستخدمة في التحديد الكمي) وذلك لأننا نأخذ عدة تراكيز وعدة قيم ثم نرسم الخط الوسطي وهذا يقلل الخطأ ويبين المجال الذي يمكن استخدام هذا التحليل ضمنه فعندما ينحرف الخط المستقيم يعني ذلك أنه أصبحنا بالمجال الخطي أي لا يجوز القياس عند هذا التركيز.

تمديد محاليل العينات التحليلية n (معامل التمديد أو التخفيف):

عندما يكون تركيز محلول العينة كبيراً جداً، فإننا نمدد عدداً من المرات، بحيث يصبح مستوى تركيز العينة المعايرة من مستوى المحلول العياري المعاير به. أي يصبح التركيز محقق للعلاقة الخطية للسلسلة العيارية.

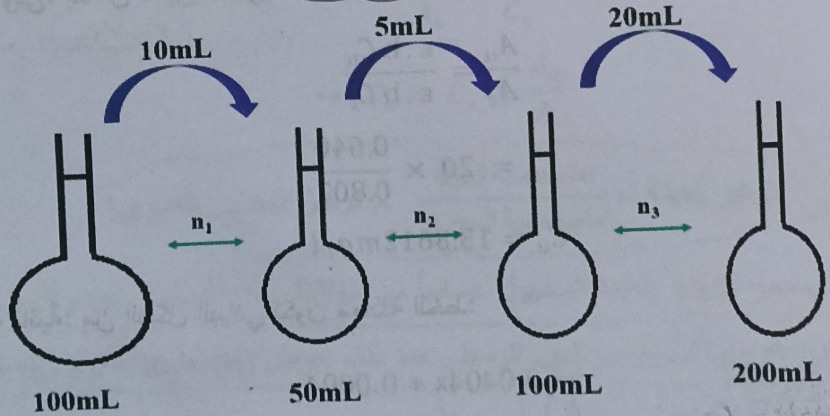
* متى نلجأ إلى تمديد العينة؟ عندما يكون تركيزها مرتفع خارج مجال الخطية.

معامل (عدد مرات) التمديد = الحجم النهائي / الحجم العينة المقتطع (المأخوذ)

ثم نضرب بعدد مرات التمديد للعودة للعينة الأصلية:

تركيز العينة الأصلية = تركيز العينة الممددة × عدد مرات التمديد.

التركيز الأصلي $C' = C \times n$



$$n_1 = \frac{50}{10} = 5 \qquad n_2 = \frac{100}{5} = 20 \qquad n_3 = \frac{200}{20} = 10$$

عدد مرات التمديد الكلية $n = n_1 \times n_2 \times n_3 = 1000$

تكثيف محاليل العينات التحليلية L:

عندما يكون تركيز محلول المعايرة منخفضاً جداً، فإننا نكثف عدداً من المرات، بحيث يصبح مستوى محتوى العنصر المراد تعيينه قابلاً للتعيين (أي زيادة تركيز العينة).

في هذه الحالة نحسب نتيجة المحلول المكثف

(لدينا عينة بلازما => عينة سائلة
بإمكاننا إجراء عملية تكثيف أو تمديد.
أما إذا كانت العينة وزنة (صلبة)
فنقوم بإجراء تمديد أولاً ثم تكثيف)

(تبخر العينة = كثفت = استخلصت)

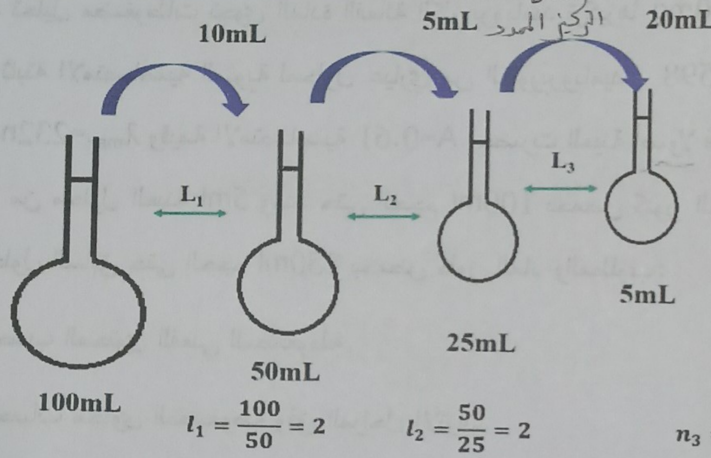
$$\text{عدد مرات التكثيف} = \frac{\text{الحجم قبل التكثيف}}{\text{الحجم بعد التكثيف}}$$

(أي المقصود احسب عدد مرات التكثيف)

ومن ثم نقسم على عدد مرات التكثيف للعودة إلى محتوى الأصلية.

$$\text{التركيز الأصلي } C' = C \times \frac{1}{l}$$

(C: التركيز المورد، l: عدد مرات التكثيف)



$l_1 = \frac{100}{50} = 2$ $\quad l_2 = \frac{50}{25} = 2$ $\quad n_3 = \frac{25}{5} = 5$

عدد مرات التكثيف الكلية $L = L_1 \times L_2 \times L_3 = 20$

❖ إذا احتجنا إلى تمديد العينة وتكثيفها عندئذ يصبح التركيز الأصلي للعينة:

$$\text{التركيز الأصلي } C' = C \times \frac{n}{l}$$

❖ حساب محتوى العينة بواحدات ppm والنسبة المئوية.

$$C_{ppm} = \frac{C_{mg/L} \cdot V_K \cdot n}{a}$$

(n: عدد مرات التمديد)

(جزء من مليون جزء من العينة الصلبة.
أي يطلب هذا القانون في المسألة عندما تكون العينة صلبة)

حيث: V_K حجم الدورق الذي حلت فيه العينة

a: وزن العينة مقدراً بـ gr

$C\% = C_{ppm} \times 10^{-4}$

التحليل الكمي بغياب المادة العيارية:

نلجأ إلى هذا التحليل عندما تكون المادة الفعالة النقية للمركب الدوائي غير متوافر أو تكلفته غالية هنا نعتمد على دستور الأدوية الذي يزودنا بمعطيات من أجل التحديد مثل قيمة ثابتة الامتصاصية المئوية ومعامل الامتصاص المولي وقيمة امتصاصية محلول عياري من المادة المدروسة. ويزودنا بكيفية تحضير العينة وبطبيعة المذيب والوسط pH المستخدم للقياس حيث يجب أن نتقيد بطريقة التحليل من حيث الشروط المثلى والثوابت المذكورة في دستور الأدوية.

مسألة:

يراد تحليل مضغوطات تحوي المادة الفعالة الكلوربروباميد تركيزها 250mg وجد حسب الدستور أن ثابتة الامتصاصية المئوية لمحلول عياري من الكلوربروباميد A(1%, 1cm) =598 عند λ_{max}=232nm وقيمة الامتصاصية A=0.61. حضرت العينة أصولاً في دورق سعة 50ml ثم أخذ من محلول العينة 5ml ومدد حتى الحجم 100ml بحمض كلور الماء، ثم مدد 10ml من المحلول السابق حتى الحجم 250ml بحمض كلور الماء والمطلوب:

– احسب المحتوى الفعلي للمضغوطة.

يتم حساب محتوى المضغوطة وفق المراحل الآتية:

- ❖ حساب التركيز النظري (TC)
- ❖ حساب التركيز العملي (PC)
- ❖ حساب النسبة المئوية
- ❖ حساب المحتوى الفعلي للمضغوطة

1– حساب التركيز النظري: هنا يجب أن يكون التركيز بواحدة g% يحسب وفق القانون:

$$T.C = \frac{250}{50} \times \frac{5}{100} \times \frac{10}{250} \times \frac{100}{1000}$$

$$T.C = 0.001 \frac{g}{100ml} (g\%)$$

2– حساب التركيز العملي: من قانون بيير لامبرت

$$A = A\,(1\%,\ 1cm) \times b \times C$$

بما أن b=1 يكون التركيز العملي:

$$P.C = \frac{A}{A\,(1\%, 1cm)}$$

$$P.C = \frac{0.61}{598}$$

$$P.C = 0.00102g\%$$

3- حساب النسبة المئوية: = التركيز العملي / التركيز النظري × ١٠٠

$$\text{النسبة المئوية} = \frac{PC}{TC} \times 100$$

$$\text{النسبة المئوية} = \frac{0.00102}{0.001} \times 100 = 102\%$$

4- حساب محتوى المضغوطة:

عندما تكون النسبة المئوية 100% يكون محتوى المضغوطة 250mg

إذا كانت النسبة المئوية 102% عندها يكون محتوى المضغوطة X

$$X = \frac{250 \times 102}{100} = 255mg$$ → (أثناء تحضير المستحضر الصانع بكل مضغوطة 5mg زيادة).

مسائل: مطلوب

مسألة أولى: احسب التواتر بالهرتز لما يأتي:

a- اشعاع X-Ray طول موجته 2.65 A°.

b- الخط ذي طول الموجة 694.3nm للإشعاع الياقوتي اللون.

c- عصابة الامتصاص تحت الحمراء عند 19.6μm.

الحل:

$$\nu = \frac{c}{\lambda} = \frac{3.00 \times 10^{10} cm.s^{-1}}{\lambda\ cm} = \frac{3.00 \times 10^{10}}{\lambda}\ s^{-1}(Hz)$$

$$a) \quad \nu = \frac{3.00 \times 10^{10} cm.s^{-1}}{2.65\ A^{\circ} \times \frac{10^{-8} cm}{A^{\circ}}} = 1.13 \times 10^{18}\ Hz$$

$$b) \quad \nu = \frac{3.00 \times 10^{10} cm.s^{-1}}{694.3\ nm \times \frac{10^{-7} cm}{nm}} = 4.32 \times 10^{14}\ Hz$$

$$c) \quad \nu = \frac{3.00 \times 10^{10} cm.s^{-1}}{19.6\ \mu m \times \frac{10^{-4} cm}{nm}} = 1.53 \times 10^{13}\ Hz$$

الواحدات المستخدمة للتعبير عن طول الموجة:

A° = أنغستروم = 10^{-10} m = 10^{-8} cm = 10^{-4} µm
nm = نانو متر = 10^{-9} m = 10 A° = 10^{-3} µm
µm = ميكرومتر = 10^{-6} m = 10^{4} A°

مسألة ثانية:

عند طول موجة الامتصاص الأعظمي $(\lambda_{max} = 580nm)$ للمعقد $Fe(SCN)^{2+}$ ، أحسب:

1- أحسب امتصاصية محلول للمعقد تركيزه $3.40 \times 10^{-5}M$ عند λ_{max} في خلية 1cm.

2- امتصاصية محلول تركيزه ضعف التركيز في الطلب الأول.

3- نفوذية المحلولين السابقين.

4- امتصاصية محلول نفوذيته تساوي نصف نفوذية المحلول الموصوف في الطلب الأول.

الحل:

$$1)\ A = \varepsilon bc = 7.00 \times 10^{3} L.cm^{-1}.mol^{-1} \times 1cm \times 3.40 \times 10^{-5}M = 0.238$$

$$2)\ A = \varepsilon bc = 7.00 \times 10^{3} \times 1 \times 2 \times 3.40 \times 10^{-5} = 0.476$$

$$3)\ T = 10^{-A}$$

$$T_1 = 10^{-0.238} = 0.578$$

$$T_2 = 10^{-0.476} = 0.334$$

$$4)\ A = -\log T = -\log(0.578/2) = 0.539$$

مسألة ثالثة:

لدينا محلول مادة دوائية تركيزه 10μg/ml وامتصاصيته 0.715 والمطلوب احسب ثابت الامتصاصية المئوية.

$$A = A\,(1\%,\ 1cm) \times b \times C$$

هنا التركيز يجب أن يكون g/100ml أي g% ومن نص المسألة التركيز بواحدة μg/ml لذلك يجب أن نحول التركيز:

μg × 10⁻⁶ → g

لأن 100ml

$$C = 10(\mu g/ml) \times 10^{-6} \times 100 = 0.001 g/100ml$$

$$A\,(1\%, 1cm) = \frac{A}{C \times b} = \frac{0.715}{0.001 \times 1} = 715$$